

MACHINE-ASSISTED TRANSLATION (MAT):

| | |
|--|---|
| (19)【発行国】 日本国特許庁 (J P) | (19)[ISSUING COUNTRY] Japan Patent Office (JP) |
| (12)【公報種別】 公開特許公報 (A) | (12)[GAZETTE CATEGORY] Laid-open Kokai Patent (A) |
| (11)【公開番号】 特開平 1 1 - 3 2 2 5 3 4 | (11)[KOKAI NUMBER] Unexamined Japanese Patent (1999-322534) Heisei 11-322534 |
| (43)【公開日】 平成 1 1 年 (1 9 9 9) 1 1 月 2 4 日 | (43)[DATE OF FIRST PUBLICATION] (1999.11.24) |
| (54)【発明の名称】 セラミド合成促進剤 | (54)[TITLE of the Invention] CERAMIDE SYNTHESIS PROMOTER |
| (51)【国際特許分類第 6 版】 A61K 7/00 | (51)[IPC Int. Cl. 6] A61K 7/00 7/48 35/74 ADA |
| 【 F I 】 A61K 7/00 K C W 7/48 35/74 ADA G | [FI] A61K 7/00 K C W 7/48 35/74 ADA G |
| 【審査請求】 未請求 | [REQUEST FOR EXAMINATION] No |

【請求項の数】 1

[NUMBER OF CLAIMS] 1

【出願形態】 O L

[FORM of APPLICATION] Electronic

【全頁数】 8

[NUMBER OF PAGES] 8

(21) 【出願番号】

特願平 1 0 - 1 3 1 8 5 7

(21)[APPLICATION NUMBER]

Japanese Patent Application (1998-131857)
Heisei 10-131857

(22) 【出願日】

平成 1 0 年 (1 9 9 8) 5 月 1
4 日

(22)[DATE OF FILING]

(1998.5.14)

(71) 【出願人】

(71)[PATENTEE/ASSIGNEE]

【識別番号】

0 0 0 0 0 0 9 5 2

[ID CODE]

000000952

【氏名又は名称】

鐘紡株式会社

[NAME OR APPELLATION]

K.K., Kanebo

【住所又は居所】

東京都墨田区墨田五丁目 1 7 番
4 号

[ADDRESS or DOMICILE]

(72) 【発明者】

(72)[INVENTOR]

【氏名】

早瀬 基

[NAME OR APPELLATION]

Hayase Motoi

【住所又は居所】

神奈川県小田原市寿町 5 丁目 3

[ADDRESS or DOMICILE]

番 2 8 号 鐘紡株式会社化粧品
研究所内

(72)【発明者】

(72)[INVENTOR]

【氏名】

佐々木 稔

[NAME OR APPELLATION]

Sasaki Minoru

【住所又は居所】

神奈川県小田原市寿町 5 丁目 3
番 2 8 号 鐘紡株式会社基礎科学
研究所内

[ADDRESS or DOMICILE]

(57)【要約】

セラミド合成促進剤

(57)[ABSTRACT of the Disclosure]

Ceramide synthesis promoter

【課題】

皮膚表層内部で表皮細胞自身の
セラミド合成を活発化させ皮膚
バリア機能を改善することによ
って荒れ肌の改善および各種
皮膚疾患の改善が期待される、
経時安定性の優れたセラミド合
成促進剤を提供すること。

[SUBJECT of the Invention]

Provide the ceramide synthesis promoter with
which it is ruined by activating a ceramide
synthesis of an ceramide synthesis epidermal
cell itself inside skin surface layer, and
improving a skin barrier function, and
improvement of the skin and improvement of
various dermatological disorders are anticipated
and which was excellent in aging_stability.

【解決手段】

成分 A) としてセラミド合成促
進作用を持つ菌培養物と成分
B) として 1, 3 -ブチレング
リコールからなり、成分 A) が
成分 B) に対し、3 ~ 6 倍重量
であるセラミド合成促進剤。

[PROBLEM to be solved]

It is made of 1,3- butylene glycol as the microbe
culture and Component B which have a
ceramide synthesis enhancement effect as
components A, component A is a certain
ceramide synthesis promoter by weight three to
6 times to Component B.

【特許請求の範囲】

[CLAIMS]

【請求項 1】

成分 A) としてセラミド合成促進作用を持つ菌培養物と成分 B) として 1, 3-ブチレングリコールからなり、成分 A) が成分 B) に対し 3～6 倍重量であるセラミド合成促進剤。

[CLAIM 1]

It is made of 1,3- butylene glycol as the microbe culture and Component B which have a ceramide synthesis enhancement effect as components A, component A is a certain ceramide synthesis promoter by weight three to 6 times to Component B.

【発明の詳細な説明】**[DETAILED DESCRIPTION of the INVENTION]****【0001】****[0001]****【発明の属する技術分野】**

本発明は、皮膚表層内部において表皮細胞自身のセラミド合成を活発化させ、皮膚バリア機能を改善することにより荒れ肌および各種皮膚疾患の改善又は治癒効果が期待され、且つ経時安定性の優れたセラミド合成促進剤に関する。

[TECHNICAL FIELD of the Invention]

This invention activates a ceramide synthesis of an ceramide synthesis epidermal cell itself in the interior of skin surface layer.

It is ruined by improving skin barrier ability, and improvement or the healing effect of the skin and various dermatological disorders is anticipated, and it is related with the ceramide synthesis promoter which was excellent in aging_stability.

【0002】**[0002]****【従来の技術】**

脂質の一種であるセラミドは、生体内で大部分を占めるグリセロ脂質に比べて量的には少ないが、重要な生理的役割を持つ事

[PRIOR ART]

There is little ceramide which is 1 type of the lipid quantitatively compared with the glycerolipid which occupies an in vivo most. However, having an important physiological role

が最近知られてきている。これは is known recently.
は、ヒトを始めとする哺乳類の This exists in the physiologically important part
生理的に重要な部位に存在する of the mammal which makes a human the start.
が、中でも脳、肝臓、皮膚など However, being accumulated in a brain, a liver,
に蓄積されている事が知られて the skin, etc. particularly is known.
いる。

【0003】

皮膚では特に表皮角質層にセラミドが集積している。これは表皮細胞によって合成分泌され、細胞間に独特のラメラ構造を形成している細胞間脂質の主成分となっている (Lukas Landmann : Anat Embryol, 178 巻, 1 - 3 頁, 1988 年)。角質層は、皮膚の保湿能や生体の物理的保護を始めとする一連の生理的役割、いわゆるバリアー機能を持っているが、細胞間脂質はこのバリアー機能の実体であり、生命維持において最も重要な役割の一つを担っている (芋川玄爾 : 香粧会誌、15 巻、4 号、250 - 253 頁、1991 年)。この意味から、皮膚セラミドは生体防御の重要な物質の 1 つになっていると言える。

[0003]

In particular on the skin, the ceramide is integrating to the corneal layer of epidermis. Synthetic secretion of this is carried out by the epidermal cell, it is the main component of the intercellular lipid which forms the lamella structure peculiar intercellular (Lukas Landmann: Anat Embryol, 178 volumes, 1 - 3 pages, and 1988). The keratic layer has a series of physiological roles (so-called barrier function) including physical protection of the moisture-keeping ability of the skin, or a biological body. However, the intercellular lipid is the entity of this barrier function. In the life maintenance, one of the important roles is borne most (Genji Imokawa: Fragrance Journal, 15 volumes, 4,250 - 253 pages, 1991). It can be said that the skin ceramide is one of the important matter of the biophylaxis from this meaning.

【0004】

肌荒れや乾燥肌、また各種皮膚疾患では、この角質層の健全な形成が妨げられ、バリアー機能の低下が生じる事が数多く報告されている。具体的な例としては、皮膚表面の加齢に伴う表皮

[0004]

By rough skin, the dry skin, and various dermatological disorders, healthy formation of this keratic layer is barred and many things which a decline of a barrier function produces are reported. It mentions the rough skin and the dry skin

層のターンオーバーの低下、あるいは光や温度、気象条件などの外的要因によって生じる肌荒れや乾燥肌があげられる。これはバリアー機能の低下が生じ、本来皮膚が有している保湿能力の低下と水分蒸散量の増加が生じた結果誘発され则认为されている（赤崎秀一ほか：日皮会誌、98巻、1号、41-51頁、1988年）。

which are produced as a concrete example according to external factors, such as a decline of the turnover of the epidermis layer accompanied to the aging of a skin surface or a light, and temperature, a weather condition.

It is thought that this is induced as a result of a decline of a barrier function arising and a decline of a moisture-keeping capability and the increase in a water-component transpiration amount which the skin originally has arising (Akasaki Shuichi and others: a day hide bulletin, 98 volumes, 1, 41 - 51 pages, 1988).

【0005】

また皮膚疾患のなかで、アトピー性皮膚炎では患者の炎症部のみならず非炎症部でもバリアー機能の低下や崩壊が見られ、患者皮膚中セラミドの全般的な、あるいは特定の種類の含量低下が報告されている（川島真：香粧会誌、15巻、4号、261-262頁、1991年）。このほか乾癬でも患者皮膚中のセラミド量の変動が報告されており（Stefania.M: Arch Dermatol. 130巻、452-456頁、1994年）、この場合もこの変動がバリアー崩壊と関係していると考えられる。

[0005]

Moreover, in dermatological disorders, a decline and disintegration of a barrier function are seen by the atopic dermatitis not only in a patient's inflammation section but in the non-inflammation section, the ceramide in the patient skin is general, or a content decline of a specific kind is reported (Kawashima truth: Fragrance Journal, 15 volumes, 4, 261 - 262 pages, 1991).

In addition, fluctuation of the ceramide amount in the patient skin is reported by psoriasis (Stefania.M: Arch Dermatol. 130 volume, 452 - 456 pages, 1994), and it is thought that this fluctuation is related to barrier disintegration also in this case.

【0006】

このような皮膚バリアー機能の低下や崩壊からくる皮膚の疾患や不全に対しては、従来保湿剤の投与で皮膚の乾燥状態を防ぎ

[0006]

To the illness and insufficiency of the skin which come from a decline and disintegration of such a skin barrier function, it is as follows.

Suppression of preventing a skin-dryness state

潤いを持たせることや、抗炎症剤による湿疹の抑制が試みられてきた。しかし、これらの方法は、角質表面の水分あるいは保湿成分の一部を補給する為にその効果が一時的なものに留まり、皮膚内部に十分な潤いを持続的に与える事ができなかったり（武村俊之：ファルマシア、28巻、1頁、1992年）、一時的な炎症を抑えても効果の持続性や副作用に問題のあることが多かった。

【0007】

これに対し、最近バリアー構成主要成分であるセラミドの外部補給で皮膚の改善治療が試みられ、肌荒れ状態やアトピー性皮膚炎への有効性が報告された（檜垣祐子ほか：アレルギーの臨床、13巻、12号、26-28頁、1993年）。しかしながら、この方法は効果の出現が早いと思われる半面、従来から用いられていた保湿剤などと同様、効果の持続性の点で不十分であり、また、皮膚の状態による経皮吸収の違いなどで効果が充分発揮されないという欠点がある。

【0008】

一方、外部から補給するのでは

by administration of a moisturizer conventionally, and giving a moisture and the eczema by the anti inflammatory agent has been tried.

However, these procedure stops at a thing with the temporary effect, in order to replenish one part of the water component on the surface of the keratin, or a moisture-keeping component, sufficient moisture for the interior of the skin was not able to be given continuously (Toshiyuki Takemura: Pharmacia, 28 volumes, 1 page, 1992), even if it restrained temporary inflammation, the problem was in the persistence and side effect of an effect in many cases.

[0007]

On the other hand, the improvement treatment of the skin is tried by external replenishment of the ceramide which is a barrier composition main component recently, effectiveness was reported to a rough-skin state or an atopic dermatitis.

(Yuko Higaki, others: Clinical of allergy, 13 volumes, 12, 26 - 28 pages, 1993).

However, while it is thought that this procedure has the early appearance of an effect, the persistence of an effect is inadequate like the conventionally used moisturizer.

Moreover, there is a fault from which an effect is not enough demonstrated by the transdermal difference by the state of the skin.

[0008]

On the other hand, it does not replenish from

なく、組織内部でのセラミド合成能を高めることによる皮膚の改善治療が試みられ、これまでに酵母菌等の菌培養物が表皮細胞のセラミド合成を促進することが見出された（特開平８－２１７６５８号公報、特開平９－１９４３８３号公報、特願平９－１１５２３６号）。しかしながらこれら菌培養物は澱が出るなど不安定であると共に微生物による汚染を受け易く、経時的に安定なセラミド合成促進物質を得ることは困難であった。

【０００９】

【発明が解決しようとする課題】

かかる事情に鑑み、本発明者等は、皮膚表層内部で表皮細胞自身のセラミド合成を活発化させ皮膚バリアー機能を改善させる効果を損なわずに経時的に安定であるセラミド合成促進物質を得る事を意図し、物質の溶解性が高く、防腐効果があり、且つ細胞や皮膚への作用が緩和である物資を種々検討した結果、セラミド合成促進作用を持つ菌培養物と１，３－ブチレングリコールからなる特定比率の組成物が有効なセラミド合成促進作用を有すると共に経時安定性に優れていることを見出し、本発明

the outside but the improvement treatment of the skin by raising the ceramide synthesis ability inside a tissue is tried, it was discovered that microbe cultures, such as a yeast, promote a ceramide synthesis of an epidermal cell until now (Unexamined-Japanese-Patent No. 8-217658, 9-194383, Japanese Patent Application No. 9-115236).

However, these microbes culture tends to receive the contamination by microorganisms while it is an insecurity that a precipitate comes out etc., it was difficult to obtain the stable ceramide synthesis promoting agent with time.

[0009]

[PROBLEM to be solved by the Invention]

It takes into consideration with this situation and intends obtaining the stable ceramide synthesis promoting agent with time, without impairing the effect of These inventors activating a ceramide synthesis of an ceramide synthesis epidermal cell itself inside skin surface layer, and improving a skin barrier function, the solubility of the matter is high and there is an antisepticizing effect.

And various goods with the mild effect to the cell or the skin were examined.

Consequently, while having a ceramide synthesis enhancement effect with the effective composition of the specific ratio which consists of a microbe culture with a ceramide synthesis enhancement effect, and 1,3- butylene glycol, it discovers excelling in aging_stability, it came to

を完成するに至った。すなわち、本発明の目的は、皮膚表層内部で表皮細胞自身のセラミド合成を活発化させ皮膚バリアー機能を改善することにより荒れ肌の改善および各種皮膚疾患の改善が期待され、且つ経時安定性の優れたセラミド合成促進剤を提供するにある。

perfect this invention.

That is, it is ruined by activating a ceramide synthesis of an ceramide synthesis epidermal cell itself inside skin surface layer, and improving a skin barrier function, and improvement of the skin and improvement of various dermatological disorders are anticipated, and it is in providing the ceramide synthesis promoter which was excellent in aging_stability.

【0010】

[0010]

【課題を解決するための手段】

[MEANS to solve the Problem]

上述の目的は、成分A)としてセラミド合成促進作用を持つ菌培養物と成分B)として1, 3-ブチレングリコールからなり、成分A)が成分B)に対し3～6倍重量であるセラミド合成促進剤によって達成される。

The above-mentioned objective consists of 1,3-butylene glycol as the microbe culture and Component B which have a ceramide synthesis enhancement effect as components A, component A is attained by a certain ceramide synthesis promoter by weight three to 6 times to Component B.

【0011】

[0011]

【発明の実施の形態】

[EMBODIMENT of the Invention]

以下、本発明の構成について詳説する。本発明に用いられる菌培養物は、表皮細胞自身のセラミド合成を活発化するもので、乳酸菌培養物、ビフィズス菌培養物、きのこ菌体培養物、酵母菌培養物等が挙げられる。

Hereafter, it explains in full detail about the composition of this invention.

The microbe culture used for this invention activates a ceramide synthesis of an ceramide synthesis epidermal cell itself.

A lactobacillus culture, a bifidobacterium culture, a mushroom microbial-cell culture, a yeast culture, etc. are mentioned.

【0012】

乳酸菌としては、例えば Streptococcus thermophilus, Lactobacillus bulgaricus, Lactococcus lactis 等、ビフィズス菌としては、例えば Bifidobacterium bifidum 等、きのこ菌体としては、例えば Lentinus edodes (しいたけ), Pleurotus ostreatus (ひらたけ), Flammulina velutipes (えのきたけ) 等、酵母菌としては、例えば Saccharomyces cerevisiae, Endomyces magnusii 等が挙げられる。

[0012]

As lactobacillus, for example Streptococcus thermophilus, lactobacillus bulgaricus, Lactococcus lactis etc., as a bifidobacterium For example Bifidobacterium bifidum Etc., as a mushroom microbial cell For example Lentinus edodes (shiitake mushroom), pleurotus ostreatus (Pleurotus ostreatus), flammulina velutipes (Flammulina velutipes) etc., as a yeast, it is Saccharomyces, for example. cerevisiae and Endomyces magnusii etc. are mentioned. For example, Saccharomyces cerevisiae and Endomyces magnusii etc. are mentioned.

【0013】

本発明に用いられる 1, 3-ブチレングリコールに対し、菌培養物は 3～6 倍重量である。3 倍より菌培養物が少ない場合は澱を生じ、また、6 倍より多い場合は微生物による汚染を生じることがある。

[0013]

There is a 3 to 6-time microbe culture by weight to the 1,3- butylene glycol used for this invention. A precipitate is produced when there are few microbe cultures than triple, moreover, when more than 6 times, the contamination by microorganisms may be produced.

【0014】

本発明のセラミド合成促進剤の使用形態としては、培養細胞への添加剤の他、皮膚外用剤があり、例えば軟膏、クリーム、ローション、乳液、パックなどが挙げられる。

[0014]

As a use form of the ceramide synthesis promoter of this invention, there is an external preparation for skin besides the additive agent to a cultured cell. For example, the salve, cream, a lotion, a milky lotion, a pack, etc. are mentioned.

【0015】

皮膚外用剤の基剤としては、公

[0015]

As a base of an external preparation for skin, it

知のものでよく、例えば、メチルフェニルポリシロキサン、ジメチルポリシロキサン、シクロメチコン等のシリコン油、パラフィン、ワセリン等の炭化水素類、オリーブスクワラン、米スクワラン、米胚芽油、ホホバ油、ヒマシ油、紅花油、ヒマワリ油、オリーブ油、マカデミアナッツ油などの植物油、ミツロウ、モクロウ、カルナバロウ等のロウ類、ミリスチン酸オクチルドデシル、パルミチン酸セチル等のエステル油、セタノール、ベヘニルアルコール、ステアリアルアルコール等の高級アルコール類、コレステロール、フィトステロール、分岐脂肪酸コレステロールエステル等のステロール類、硬化油等の加工油類、ステアリン酸、ミリスチン酸、イソステアリン酸、オレイン酸、イソ型長鎖脂肪酸、アンテイソ型長鎖脂肪酸などの高級脂肪酸、トリイソステアリン酸グリセリド、カプリル・カプリン酸グリセリド、2-エチルヘキサン酸グリセリルなどのトリグリセリド、タール系色素、酸化鉄などの着色顔料、パラベン、フェノキシエタノールなどの防腐剤、セチル硫酸ナトリウム、N-ステアロイル-L-グルタミン酸塩、グリチルリチン酸塩などの陰イオン界面活性剤、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、

is easy to be well-known, for example, they are silicone oils, such as a methylphenyl polysiloxane, a dimethyl polysiloxane, and a cyclomethicone, hydrocarbons, such as a paraffin and petrolatum

Vegetable oils, such as olive squalane, the U.S. squalane, rice germ oil, a jojoba oil, a castor oil, safflower oil, a sunflower oil, olive oil, and macadamia-nut oil, waxes, such as beeswax, Japan tallow, and carnauba wax, ester oil, such as a myristic-acid octyl dodecyl and cetyl palmitate, higher alcohols, such as a cetanol, a behenyl alcohol, and stearyl alcohol

Sterol, such as cholesterol, phytosterol, and branch fatty-acid cholesterol ester

Process oil, such as hardened oil, higher fatty acids, such as a stearic acid, myristic acid, an iso stearic acid, an oleic acid, an iso type long chain fatty acid, and an anteiso-type long chain fatty acid, triglyceride, such as triiso stearic-acid glyceride, capryl * capric-acid glyceride, and diethyl hexanoic acid glyceryl, anionic surface active agents, such as antiseptics, such as color pigments, such as a tar-based pigment and an iron oxide, a paraben, and a phenoxy ethanol, cetyl sodium sulfate, a N- stearoyl- L- glutamate, and a glycyrrhetic-acid salt, polyoxyethylene alkyl ether, polyoxyethylene fatty acid ester, polyoxyethylene polyhydric-alcohol fatty acid ester, polyoxyethylene hydrogenated-castor_oil, polyhydric-alcohol fatty acid ester, non-ion surfactants, such as polyglyceryl-fatty-acid-ester, modified silicone, and cane-sugar ester, cationic surface active agents, such as a tetraalkylammonium salt, a

ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン多価アルコール脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、多価アルコール脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、変性シリコン、蔗糖エステルなどの非イオン界面活性剤、テトラアルキルアンモニウム塩などの陽イオン界面活性剤、ベタイン型、スルホベタイン型、スルホアミノ酸型などの両性界面活性剤、レシチン、リゾフォスファチジルコリン、セラミド、セレブロシドなどの天然系界面活性剤、酸化チタン、酸化亜鉛などの顔料、ジブチルヒドロキシトルエンなどの抗酸化剤、エタノール等の一級アルコール、ジプロピレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、ソルビトール、マルビトール、ジグリセリン、塩化ナトリウム、塩化マグネシウム、硫酸ナトリウム、硝酸カリウム等の無機塩類、琥珀酸ナトリウム、アスパラギン酸ナトリウム等の有機酸塩類、塩酸エタノールアミン、硝酸アンモニウム、塩酸アルギニン、磷酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、炭酸塩、トリスヒドロキシメチルアミノメタン塩酸塩、ジイソプロピルアミンジクロロ酢酸塩等の塩類、キサンタンガム、カルボキシビニルポリマー、カラギーナンアル

betaine type, amphiphilic surfactants, such as a sulfobetaine type and a sulfo amino acid type, natural -based interfacial activators, such as a lecithin, a lyso phosphatidylcholine, ceramide, and cerebroside, antioxidants, such as pigments, such as a titanium oxide and a zinc oxide, and dibutylhydroxytoluene, inorganic salts, such as first-class alcohol, such as an ethanol, a dipropylene glycol, glycerol, a propylene glycol, sorbitol, "marubitol", a diglycerine, sodium chloride, magnesium chloride, sodium sulfate, and potassium nitrate, organic-acid salts, such as a sodium succinate and a sodium aspartate, salts, such as the hydrochloric-acid ethanolamine, ammonium nitrate, the arginine hydrochloride, a phosphate, a citrate, acetate, carbonate, tris hydroxymethyl aminomethane hydrochloride, and a diisopropyl amine dichloroacetic-acid salt, thickeners, such as a xanthan gum, a carboxy vinyl polymer, and a carrageenan alkyl denatured carboxy vinyl polymer, neutralizers, such as chelating agents, such as an edetic acid, potassium hydroxide, a diisopropanolamine, and triethanolamine, biopolymers, such as a hyaluronic acid and a collagen, a camomile, swertia, an aloe, a peach, a carrot, a field horsetail (*Equisetum arvense*), a hoe, the leaf of a peach, the SAGE, and a loquat -- plant extract, such as a leaf, a cucumber, a *Hedera helix*, a hibiscus, turmeric, a rosemary, and a licorice, amino acids, such as serine, a threonine, N- methyl- l-serine, aminobutyric acid, and hydroxy aminobutyric acid, although vitamins, such as ultraviolet absorbers, such as a hydroxy methoxy benzophenone sulfonate, vitamin A, B, C, and

キル変性カルボキシビニルポリマー等の増粘剤、エデト酸等のキレート剤、水酸化カリウム、ジイソプロパノールアミン、トリエタノールアミン等の中和剤、ヒアルロン酸、コラーゲン等の生体高分子、カミツレ、センブリ、アロエ、モモ、カロット、スギナ、クワ、桃の葉、セージ、ビワ葉、キュウカンバー、セイヨウキズタ、ハイビスカス、ウコン、ローズマリー、甘草等の植物エキス、セリン、スレオニン、N-メチル-L-セリン、アミノ酪酸、ヒドロキシアミノ酪酸等のアミノ酸、ヒドロキシメトキシベンゾフェノンスルホン酸塩等の紫外線吸収剤、ビタミンA類、B類、C類、E類などのビタミン類等を用いることが出来るがこれに限定されるものではない。

E, can be used, it is not limited to this.

【0016】

本発明のセラミド合成促進剤を、培養表皮細胞系に添加してセラミド合成を促進する場合の添加量は、0.001～10重量%が好ましい。

[0016]

The additional amount in the case of adding the ceramide synthesis promoter of this invention to culture epidermal-cell -based, and promoting a ceramide synthesis has 0.001 to 10 desirable weight%.

【0017】

また、本発明のセラミド合成促進剤の皮膚外用剤への配合量は、セラミド合成を十分に促進し、しかも培養物の色や臭いが出にくい配合量を考慮し、組成

[0017]

Moreover, the blending quantity to the external preparation for skin of the ceramide synthesis promoter of this invention fully promotes a ceramide synthesis, and the blending quantity out of which the color or smell of a culture

物総量を基準として、0.01～20重量%とするのが好ましく、特に好ましくは0.1～10重量%である。 cannot come easily is considered, it is desirable to consider as 0.01 to 20 weight% on the basis of a composition total amount, most preferably, it is 0.1 to 10 weight%.

【0018】

[0018]

【実施例】

以下、実施例、比較例により詳細に説明する。

実施例1～5、比較例1～5(乳酸菌培養物)

スキムミルク10g、グルコース1g、ニコチン酸0.01g、酵母エキス0.5gに精製水を加えて100mlとし、121℃、20分間高圧滅菌して培地を調製した(スキムミルクはDifco社製、グルコース、ニコチン酸は関東化学社製、酵母エキスはアサヒビール社製を用いた)。これに同培地で37℃、24時間前培養した *Lactococcus lactis* (IFO 12007)、*Streptococcus thermophilus* (ATCC 19254) および *Lactobacillus bulgaricus* (ATCC 11842) を1%接種した。37℃、24時間静置培養後、遠心分離で菌体を除き、培養上清を80℃、30分間処理した乳酸菌培養物を得た。この乳酸菌培養物と1,3-ブチレングリコールをそれぞれ一定量混合し、実施例1～5のセラミ

[EXAMPLES]

Hereafter, an Example and Comparative Example demonstrate in detail.

Example 1-5, Comparative Example 1-5 (lactobacillus culture)

A pure water is added to skim milk 10g, glucose 1g, 0.01g of nicotinic acid, and 0.5g of yeast extract, and it may be 100 ml, the autoclaving was carried out for 20 minutes and 121 degrees C of media were prepared (the product made from Difco, a glucose, and the nicotinic acid used the Kanto Kagaku make, and, as for skim milk, the yeast extract used the product made from an Asahi Breweries, Ltd.).

Lactococcus lactis (IFO 12007), *Streptococcus thermophilus* (ATCC 19254), and *Lactobacillus bulgaricus* (ATCC 11842) which were cultivated for 24 hours at 37 degrees C ago were vaccinated into this 1% by this medium.

The lactobacillus culture which processed 80 degrees C of culture supernatant liquids for 30 minutes except for the microbial cell by the centrifugation was obtained after 37 degrees C and 24-hour stationary culture.

Constant-rate mixing of this lactobacillus culture and the 1,3- butylene glycol is carried out, respectively, the ceramide synthesis promoter of Example 1-5 was obtained, respectively.

ド合成促進剤をそれぞれ得た。
 また、上記乳酸菌培養物と1,
 3-ブチレングリコール、エタ
 ノール、ジプロピレングリコ
 ールを混合し、比較例1～5の組
 成物を得た。混合割合は重量%
 である。

Moreover, the above-mentioned lactobacillus
 culture, 1,3- butylene glycol, an ethanol, and a
 dipropylene glycol are mixed, the composition
 of Comparative Example 1-5 was obtained.
 A mixing rate is weight%.

【0019】

[0019]

【表1】

[TABLE 1]

| | 実施例 | | | | | 比較例 | | | | |
|---|-----|----|----|----|----|-----|----|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 培養物 Lactobacillus bulgaricus (ATCC 11842) | 80 | 75 | 85 | — | — | 100 | 70 | 90 | 80 | 80 |
| 培養物 Streptococcus thermophilus (ATCC 19254) | — | — | — | 80 | — | — | — | — | — | — |
| 培養物 Lactococcus lactis (IP012007) | — | — | — | — | 80 | — | — | — | — | — |
| 1, 3-ブチレングリ コール | 20 | 25 | 15 | 20 | 20 | — | 30 | 10 | — | — |
| エタノール | — | — | — | — | — | — | — | — | 20 | — |
| ジプロピレングリ コール | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 20 |
| 安定性試験 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | × | × | ○ | × | × |
| 防腐力試験 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | × | ○ | × | ○ | × |

Example; Comparative Example

Culture

...

1,3-Butylene glycol

Ethanol

Dipropylene glycol

Stability test

Preservation-from-decay power test

【0020】

以下、実施例1～5のセラミド合成促進剤、および比較例1～5の組成物を用いた、経時安定性試験、セラミド合成促進試験及び皮膚バリアー回復試験を行った。

[0020]

The ceramide synthesis promoter of the following and Example 1-5, and the examination of aging stability using the composition of Comparative Example 1-5, a ceramide synthesis accelerated test, and skin barrier recovery were examined.

【0021】

試験例1 経時安定性試験（製剤安定性）

（1）方法

サンプル管に実施例1～5のセラミド合成促進剤、および比較例1～5によって得られた菌培養物を入れ、30℃、室温、0℃にて3ヶ月間放置し、澱の無い物を○とし、澱があるものを×とした。

（2）結果

結果を表1に示す。表1より明らかなように本発明のセラミド合成促進剤（実施例1～5）に経時安定性効果が認められた。

[0021]

Experiment 1 Examination of aging stability (formulation stability)

(1) Procedure

It is the ceramide synthesis promoter of Example 1-5 to a sample pipe, and the microbe culture obtained by Comparative Example 1-5 is put, it is left for three months at 30 degrees C, room temperature, and 0 degree C, let a thing without a precipitate be a circle, the thing with a precipitate was made into *.

(2) Result

A result is shown to Table 1.

Obviously from Table 1, the aging stability effect was observed in the ceramide synthesis promoter (Example 1-5) of this invention.

【0022】

試験例2 経時安定性試験（余剰防腐性）

（1）方法

未殺菌のガラス管に実施例1～5のセラミド合成促進剤、および比較例1～5によって得られ

[0022]

Experiment 2 Examination of aging stability (remainder antisepsis)

(1) Procedure

It is the ceramide synthesis promoter of Example 1-5 to a non-sterilized glass tube, and 20 ml of microbe cultures obtained by

た菌培養物 20 ml を入れ、
 Staphylococcus aureus(ATCC6538)、
 Escherichia coli(ATCC8739)、
 Pseudomonas aeruginosa(ATCC9027) を 10
 5 個/ml となるように植菌
 し、25℃にて 28 日間放置し、
 それぞれ菌数が 0.1%以下と
 なったものを○、菌数が 0.1%
 以下とならなかったものを×と
 した。

(2) 結果
 結果を表 1 に示す。表 1 より明
 らかなように本発明のセラミド
 合成促進剤(実施例 1~5)に
 余剰防腐力が認められ、経時安
 定性効果が認められた。

Comparative Example 1-5 is put,
 staphylococcus aureus (ATCC6538),
 Escherichia coli (ATCC8739), and
 Pseudomonas aeruginosa (ATCC9027) are
 inoculated so that it may become 105 piece/ml,
 it is left for 28 days at 25 degrees C, it is a circle
 about that from which the number of microbes
 became 0.1 % or less, respectively, that from
 which the number of microbes did not become
 0.1 % or less was made into *.

(2) Result

A result is shown to Table 1.

Obviously from Table 1, remainder
 preservation-from-decay power is observed in
 the ceramide synthesis promoter (Example 1-5)
 of this invention, the aging stability effect was
 observed.

【0023】

試験例 3 セラミド合成促進試
 験

(1) 方法

(a) 培養表皮細胞

ヒト正常表皮細胞は市販されて
 いるもの (Cascade Biologic 社製) を用いた。

(b) 細胞培養用培地

培地としては増殖因子として B
 PE (牛脳下垂体) を添加した
 MCDB153 培地を用いた。

(c) HEPES 緩衝液の調製
 HEPES 7.15g、グルコ
 ース 1.8g、塩化カリウム 0.
 22g、塩化ナトリウム 7.7
 g、リン酸水素二ナトリウム・

[0023]

Experiment 3 Ceramide synthesis
 accelerated test

(1) Procedure

(a) Culture epidermal cell

The human normal epidermal cell used the
 thing and (the product made from Cascade
 Biologic) which are marketed.

(b) The medium for cell cultures

MCDB153 medium which added BPE
 (bovine-brain pituitary gland) as a proliferation
 factor as a medium was used.

(c) Manufacture of HEPES buffer

HEPES 7.15g, glucose 1.8g, 0.22g of potassium
 chlorides, 7.7g of sodium chloride, 0.27g of
 disodium hydrogenphosphate *12 hydrates

These are melted in a pure water, scalpel up

12水和物0.27gを精製水に溶解し、1N水酸化ナトリウム水溶液にてpH7.4に調整後、1lにメスアップした。

was carried out after adjusting to pH7.4 in 1-N sodium-hydroxide aqueous solution at 1l.

【0024】

(d) 細胞培養

正常ヒト表皮細胞の細胞数をMCDB153培地にて 1×10^4 個/mlに調製し、60mmコラーゲンコートプレート（ファルコン社製）に4mlずつ播種し、95%空気（V/V）-5%（V/V）炭酸ガスの雰囲気下、37℃で5日間静置培養した。培養上清を吸引除去し、実施例1、4および5のセラミド合成促進剤を1重量%添加したMCDB153培地を4mlずつ各ディッシュに加えた。尚、コントロールとしてHepes緩衝液を添加した。このディッシュを95%空気（V/V）-5%（V/V）炭酸ガスの雰囲気下、37℃で6日間静置培養した。6日目に0.5 μ Ciの[14C]-セリン（American Radiolabeled Chemicals社製）を培地に添加して、培養を2日間更に行った。培養後、以下のごとく細胞を処理した。

[0024]

(d) Cell culture

It is the number of cell of a normal human epidermal cell at MCDB153 medium 1×10^4 It prepares to an individual/ml, it seeds 4 ml at a time on 60 mm collagen coat plate (falcon company make), stationary culture was carried out for five days at 37 degrees C 95% by the atmosphere of -5 % (V/V) (V/V) carbon dioxide gas of air.

A culture supernatant liquid is sucked_and_removed, it added at time 4 ml of MCDB153 media which added the ceramide synthesis promoter of Example 1, 4 and 5 1weight% to each dish.

In addition, Hepes buffer was added as control. The stationary culture of this dish was carried out for six days at 37 degrees C 95% by the atmosphere of -5 % (V/V) (V/V) carbon dioxide gas of air.

The (14C)-serine (product made from American Radiolabeled Chemicals) of 0.5 microcoulombi(s) will be added to a medium on the 6th, it cultivated further for two days.

After cultivating, the cell was processed as follows.

【0025】

(e) 脂質の抽出

培地上澄を吸引除去し、5ml

[0025]

(e) Extraction of the lipid

A medium supernatant is

のHepes緩衝液で2回洗浄した後、細胞をセルスクレーパー（住友ベークライト社製）でディッシュからかきとった。これを1.6 mlのHepes緩衝液に、懸濁し、4 mlのメタノールと2 mlのクロロホルムを加え混合する。20分間室温で静置した後、それぞれ1.6 mlのクロロホルム層をとり、脂質画分を得た。クロロホルムを遠心分離により除き1 mlのベンゼンに再溶解した。

【0026】

(f) イアトロビーズカラムを用いたセラミド画分の単離
ベンゼンに溶解した脂質試料を、イアトロビーズ 100 β 1 を充填したカラムに供し、ベンゼン-酢酸エチル（4 : 1）溶液で洗浄した後、酢酸エチル 1 ml にて溶出させることにより、セラミド画分を得た。

【0027】

(g) $[^{14}\text{C}]$ ラベルされたセラミドの放射性測定
上記セラミド画分に取り込まれた放射性を、液体シンチレーションカウンターにて測定した。

(2) 結果
結果を表 2 に示す。

【0028】

sucked_and_removed, after 5-ml Hepes buffer cleaned twice, the cell was written with the cell scraper (Sumitomo Bakelite Co., Ltd. make) from the dish.

This is suspended in 1.6 ml Hepes buffer, 4 ml methanol and 2 ml chloroform are added, and it mixes.

After standing at room temperature for 20 minutes, the 1.6 ml chloroform layer was taken, respectively and the lipid fraction was obtained. Except for chloroform, it dissolved again with 1 ml benzene by centrifugation.

[0026]

(f) An isolation of the ceramide fraction using an latrobeads column

The lipid sample which dissolved in benzene is used for in the column filled with latrobeads 100 (beta)1, after the benzene- ethyl acetate (4:1) solution washed, the ceramide fraction was obtained by making it elute by 1 ml of ethyl acetate.

[0027]

(g) (^{14}C) Radioactive measurement of the ceramide by which the label was carried out

The radioactivity received by the above-mentioned ceramide fraction was measured with the liquid scintillation counter.

(2) Result

A result is shown to Table 2.

[0028]

【表 2】

[TABLE 2]

| | 実施例 1 | 実施例 4 | 実施例 5 | コントロール |
|------------------------------------|---------|---------|---------|---------|
| セラミド産生試験(dpm/plate/2days) | 5 0 4 1 | 5 2 1 1 | 4 9 6 0 | 2 8 5 4 |
| 皮膚バリア回復試験(mg/cm ² /min) | 0. 2 1 | 0. 2 2 | 0. 2 0 | 0. 3 1 |

Example 1; ...; Control

Ceramide production test

Skin barrier recovery test

【0029】

表 2 より明らかなように本発明のセラミド合成促進剤（実施例 1、4 および 5）にセラミドの合成促進効果が認められた。

[0029]

Obviously from Table 2, the synthetic promoting effect of the ceramide was observed in the ceramide synthesis promoter (Example 1, 4 and 5) of this invention.

【0030】

試験例 4 皮膚バリアー回復試験

(1) 方法

供試動物としては Skh:hr 系ヘアレスマウス雄性（日本 SLC）6 週齢を購入、2 週間予備飼育した後、1 群 5 匹で実験を開始した。荒れ肌はレチノイン酸（ビタミン A 酸：all-transretinoic acid, SIGMA）20 μ g をエタノールに溶解、マウスの臀部に均一になるように 1 日 1 回（午前）、3 日間塗布し

[0030]

Experiment 4 Skin barrier recovery examination

(1) Procedure

As a test animal, purchasing and after carrying out preliminary raising for two weeks, experiment was started for 6 week age (Japan SLC) of Skh:hr-based hairless mouse males by 1 group 5 animal.

The rough skin dissolved retinoic-acid (vitamin-A acid: all-transretinoic acid, SIGMA) 20 microgram in ethanol, and once daily (morning), it applied for three days and it produced it so that it might become uniform at

て作製した。

the buttocks of a mouse.

【0031】

実施例1、4および5のセラミド合成促進剤2mlを凍結乾燥後、同量の50% (V/V) エタノールに溶解し、レチノイン酸を塗布し始めた日の午後から、同様に100 μ lを1日1回(午後)、3日間塗布した。尚、コントロールは、50% (V/V) エタノールのみを塗布したものである。

[0031]

2 ml of ceramide synthesis promoters of Example 1, 4 and 5 is melted in an ethanol after freeze-dried and 50 same amount% (V/V), 100 microliter(s) were similarly applied once daily (afternoon) for three days after the afternoon of the day which began to apply a retinoic acid. In addition, control applied only ethanol 50% (V/V).

【0032】

レチノイン酸塗布3日後に経表皮水分喪失量 (TEWL) を測定し、水分蒸散量(mg/cm²/min)で示した。尚、TEWLは皮膚バリアー機能を測る指標で、バリアー機能が破壊すると上昇し、それが回復すると低下するものである。TEWLの測定はフォーション製のAUM-3を用いて行なった。

[0032]

A warp epidermis water-component loss amount (TEWL) is measured three days after a retinoic-acid application, it showed by the water-component transpiration amount (mg/cm²/min).

In addition, TEWL is the parameter which measures a skin barrier function, and if a barrier function fractures, it will raise, it will fall, if it is recovered.

The measurement of TEWL was performed using AUM-3 made from Fauchon.

【0033】

(2) 結果

結果を表2に示す。表2より明らかなように、レチノイン酸塗布3日後の実施例1、4および5のセラミド合成促進剤塗布群のTEWLはコントロールよりも低く、実施例1のセラミド合成促進剤の塗布によりレチノイ

[0033]

(2) Result

A result is shown to Table 2.

Obviously from Table 2, TEWL of the ceramide synthesis promoter application group of Example 1, 4 and 5 three days after a retinoic-acid application was lower than control, and it found that the damage of the skin barrier function by the retinoic acid is recovered by the

ン酸による皮膚バリアー機能の
ダメージを回復することがわか
った。

application of the ceramide synthesis promoter
of Example 1.

【0034】

以下、本発明のセラミド合成促
進剤の応用例を示す。

応用例1～3（スキนครリーム）

実施例1のセラミド合成促進剤
を表3の組成（重量%、以下同
様である）でそれぞれを配合し、
スキนครリームを調製した（応
用例1～3）。

（1）組成

[0034]

Hereafter, the application example of the
ceramide synthesis promoter of this invention is
shown.

Application example 1-3 (skin cream)

Each is mixed for the ceramide synthesis
promoter of Example 1 by composition (it is the
same as that of weight% and the following) of
Table 3, skin cream was prepared (application
example 1-3).

(1) Composition

【0035】**[0035]****【表3】****[TABLE 3]**

| | | 処方例1 | 処方例2 | 処方例3 |
|---|------------------------|------|------|------|
| A | 流動パラフィン | 10 | 10 | - |
| | 植物スクワラン | - | - | 10 |
| | マカデミアナッツ油 | 5 | 5 | - |
| | 2-エチルヘキサン酸グリセリル | 5 | 5 | - |
| | ミリスチン酸オクチルドデシル | - | - | 5 |
| | オリーブ油 | - | - | 5 |
| | モノステアリン 酸グリセリン | 2 | 2 | 2 |
| | ステアリン 酸 | 2 | 2 | 2 |
| | コレステロール | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| | ベヘンアルコール | 2 | 2 | 2 |
| | イソステアリン 酸硬化ヒマシ油 | 1 | 1 | 1 |
| | ジメチルポリシロキサン | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| | ブチルパラベン | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| B | 実施例1のセミド合成促進剤 | 0.1 | 2 | 0.5 |
| | リルピト-液 | 5 | 5 | 5 |
| | メチルパラベン | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| | N-ステアロイル-L-グルタミン酸ナトリウム | 1 | 1 | 1 |
| | ニコチン酸アミド | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| | 甘草抽出物 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| | L-セリン | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| | グリシン | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| | エド酸塩 | 0.02 | 0.02 | 0.02 |
| | 水酸化カリウム | 0.4 | 0.4 | 0.4 |
| | 純水 | 残量 | 残量 | 残量 |

Preparation example 1; ...

A

Liquid paraffin

Plant squalane

Macadamia-nut oil

Diethyl hexanoic acid glyceryl

Myristic-acid octyl dodecyl

Olive oil

Glyceryl monostearate

Stearic acid

Cholesterol

Behenyl alcohol

Iso stearic-acid hydrogenated_castor_oil

Dimethyl polysiloxane

Butylparaben

B

The ceramide synthesis promoter of Example 1

Sorbitol liquid

Methylparaben

N-stearoyl L- sodium glutamate

Nicotinic acid amide

Licorice extract

L- serine

Glycine

Edetate

Potassium hydroxide

Purified water; Residual amount; Residual amount; Residual amount

【0036】

(2) 調製法

(A) 成分および (B) 成分を
 各々 80℃ に加熱溶解した後、
 混合して攪拌しつつ冷却し、30℃
 まで冷却して、スキנקリーム
 を調製した。

[0036]

(2) Preparation method

After heat-dissolving (A) component and (B)
 component at 80 degrees C respectively, it
 cools mixing and agitating, it cooled to 30
 degrees C and skin cream was prepared.

【0037】

応用例 4～6 (ローション)

実施例 1 のセラミド合成促進剤
 を表 4 の組成で配合し、ローシ
 ョンを調製した (処方例 4～
 6)。

(1) 組成

[0037]

Application example 4-6 (lotion)

The ceramide synthesis promoter of Example 1
 is mixed by composition of Table 4, the lotion
 was prepared (preparation example 4-6).

(1) Composition

【0038】**[0038]****【表 4】****[TABLE 4]**

| | 処方例4 | 処方例5 | 処方例6 |
|---------------------------------|------|------|------|
| 実施例1のセラミ合成促進剤 | 0.1 | 1 | 0.5 |
| エタノール | 15 | 15 | - |
| ジプロピレングリコール | - | - | 10 |
| POE 硬化ヒマシ油 (60E.O.) | 1 | 1 | 1 |
| エチルグルコース | 1 | 1 | 1 |
| マルチール液 | 5 | 5 | 5 |
| ジイソプロピルアミンジクロロ酢酸 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| カフェイン | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| N-メチル-L-セリン | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| ヒドロキシメトキシベンゾフェノン sulfonate トリウム | 0.02 | 0.02 | 0.02 |
| 燐酸水素一ナトリウム | 0.07 | 0.07 | 0.07 |
| 燐酸水素二ナトリウム | 0.03 | 0.03 | 0.03 |
| 桃の葉エキス | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| カミツレエキス | 1.5 | 1.5 | 1.5 |
| ビタミンB6塩酸塩 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| フェノキシエタノール | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| 純水 | 残量 | 残量 | 残量 |

Preparation example 4; ...

The ceramide synthesis promoter of Example 1

Ethanol

Dipropylene glycol

POE- Hydrogenated _castor_oil (60E.O.)

Ethyl glucose

Maltitol liquid

Diisopropyl amine dichloroacetic acid

Caffeine

N- methyl- serine

Hydroxy methoxy benzophenone specific sulfonate

Phosphoric-acid hydrogen 1 potassium

Phosphoric-acid hydrogen 2 sodium

Extract of peach leaf

Camomile extract

Vitamin-B6 hydrochloride

Phenoxy ethanol

Purified water; Residual amount; Residual amount; Residual amount

【0039】

[0039]

(2) 調製法

成分をそれぞれ混合溶解し、ロ
ーションを調製した。

(2) Preparation method

A component is mix-dissolved, respectively, the
lotion was prepared.

【0040】

応用例7～9 (親油型クリーム)
実施例1のセラミド合成促進剤
を表5の組成でそれぞれを配合
し、クリームを調製した (処方
例7～9)。

(1) 組成

[0040]

Application example 7-9 (lipophilic type cream)
Each is mixed for the ceramide synthesis
promoter of Example 1 by composition of Table
5, cream was prepared (preparation example
7-9).

(1) Composition

【0041】

[0041]

【表5】

[TABLE 5]

| | | 処方例7 | 処方例8 | 処方例9 |
|---|-----------------------|------|------|------|
| A | POE 変成ジ好脂リノリン * 1 | 1 | 1 | — |
| | POE 好脂 共変成ジ好脂リノリン * 2 | — | — | 2 |
| | 好脂フェニルリノリン | 5 | 5 | 5 |
| | テカ好脂シクロペンタリノリン | 22 | 22 | 10 |
| | シリコンエラストマー * 3 | 2 | 2 | — |
| | パラメキシル皮酸2-好脂キシル | 1 | 1 | 3 |
| B | 実施例1のセラミド合成促進剤 | 0.1 | 5 | 1 |
| | グリセリン | 5 | 5 | 5 |
| | ジカプリンアルコール | 10 | 10 | 10 |
| | 好脂パラベン | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| | アスコルビル硫酸エステルナトリウム | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| | γ-アミノ酪酸 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| | ゴボウ抽出物 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| | 塩化ナトリウム | 0.9 | 0.9 | 0.9 |
| | 香料 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| | 純水 | 残量 | 残量 | 残量 |

* 1 : 東レ・ダウコーニング社製, BY22-008

* 2 : ゴールドシュミット・デー・ハー社製, ABIL EM90

* 3 : 東レ・ダウコーニング社製, トレフィル

Preparation example 7; ...

A

POE- Transformation dimethyl polysiloxane *1
 POE- Cetyl- transformation dimethyl polysiloxane *2
 Methylphenyl polysiloxane
 Deca methyl cyclopenta siloxane
 Silicone elastomer *3
 Para methoxy cinnamic-acid 2-ethylhexyl

B

The ceramide synthesis promoter of Example 1
 Glycerol
 Dipropylene glycol
 Methylparaben
 Ascorbyl sulfuric-ester sodium
 Gamma aminobutyric acid
 Burdock extract
 Sodium chloride
 Fragrance
 Purified water; Residual amount; Residual amount; Residual amount

*1: Dow Corning, Toray BY22-008

*2: Goldschmidt T.H., ABIL EM90

*3: Dow Corning, Toray Trefils

【0042】

(2) 調製法

(A) 成分および (B) 成分を
 各々 60℃ に加熱溶解した後、
 混合して攪拌しつつ冷却し、30℃
 まで冷却して、クリームを
 調製した。

[0042]

(2) Preparation method

After heat-dissolving (A) component and (B) component at 60 degrees C respectively, it cools mixing and agitating, it cools to 30 degrees C, cream was prepared.

【0043】

応用例 10～11 (美容液)
 実施例 1 のセラミド合成促進剤
 を表 6 の組成でそれぞれを配合

[0043]

Application example 10-11 (essence)
 Each is mixed for the ceramide synthesis promoter of Example 1 by composition of Table

し、美容液を調製した（処方例 6, the essence was prepared (preparation 10~11)。

(1) 組成

(1) Composition

【0044】

[0044]

【表 6】

[TABLE 6]

| | | 処方例10 | 処方例11 |
|---|-----------------------------|-------|-------|
| A | 水素添加レシチン | 2 | 2 |
| | 長鎖分岐脂肪酸コレステリル * 4 | 1 | 1 |
| | ニコチン酸-dl- α -トコフェロール | 0.1 | 0.1 |
| | イステアリン酸 | 1 | 1 |
| | エタノール | 10 | 10 |
| | ジプロピレングリコール | 5 | 5 |
| B | 実施例1のセラミド合成促進剤 | 0.05 | 2 |
| | 肌科ジニルホリ- | 0.2 | 0.2 |
| | アミノ酸 | 0.1 | 0.1 |
| | グリチルチン酸カリウム | 0.2 | 0.2 |
| | ジリコパノ-アミン | 0.2 | 0.2 |
| | アロ抽出物 | 0.1 | 0.1 |
| | パピカスエキス | 0.1 | 0.1 |
| | 乳酸 | 0.05 | 0.05 |
| | キサンタンガム | 0.02 | 0.02 |
| | クエン酸 | 0.4 | 0.4 |
| | 純水 | 残量 | 残量 |

* 4 : 日本精化社製 YOFCO CLE-NH

Preparation example 10; ...

A

Hydrogenation lecithin

Long-chain-branch fatty-acid cholesteryl *4

Nicotinic-acid-dl-alpha-tocopherol

Iso stearic acid

Ethanol

Dipropylene glycol

B

The ceramide synthesis promoter of Example 1

Carboxy vinyl polymer

Methylparaben

Glycyrrhetic-acid dipotassium

Diisopropanolamine

Aloe extract

Hibiscus extract

Lactic acid

Xanthan gum

Mevalonic acid

Purified water; Residual amount; Residual amount

*4: Nippon Fine Chemical Co., Ltd., YOFCO CLE-NH

【 0 0 4 5 】

(2) 調製法

(A) 成分および (B) 成分を
各々 60℃ に加熱溶解した後、
混合して攪拌しつつ冷却し、30℃
まで冷却して、美容液を調製した。

[0045]

(2) Preparation method

After heat-dissolving (A) component and (B) component at 60 degrees C respectively, it cools mixing and agitating, it cools to 30 degrees C, the essence was prepared.

【 0 0 4 6 】

【発明の効果】

以上の如く、本発明により、皮膚表層内部で表皮細胞自身のセラミド合成を活発化させ皮膚バリアー機能を改善することによって荒れ肌の改善および各種皮膚疾患の改善が期待される、経時安定性の優れたセラミド合成促進剤を提供できることは明らかである。

[0046]

[ADVANTAGE of the Invention]

As mentioned above, it is clear that the ceramide synthesis promoter with which it is ruined by activating a ceramide synthesis of an ceramide synthesis epidermal cell itself inside skin surface layer, and improving a skin barrier function by this invention, and improvement of the skin and improvement of various dermatological disorders are anticipated and which was excellent in aging stability can be provided.



DERWENT TERMS AND CONDITIONS

Derwent shall not in any circumstances be liable or responsible for the completeness or accuracy of any Derwent translation and will not be liable for any direct, indirect, consequential or economic loss or loss of profit resulting directly or indirectly from the use of any translation by any customer.

Derwent Information Ltd. is part of The Thomson Corporation

Please visit our home page:

["WWW.DERWENT.CO.UK"](http://WWW.DERWENT.CO.UK) (English)

["WWW.DERWENT.CO.JP"](http://WWW.DERWENT.CO.JP) (Japanese)

Request Form for Translation

Translation Branch
The world of foreign prior art to you.

Translations

U. S. Serial No. :

10/008,663

Requester's Name:

James M. Spear

Phone No. :

703 308 2457

Fax No. :

703 746 5181

Office Location:

Crystal Mall I 3A01

Art Unit/Org. :

1615

Group Director: John D. Oll

Is this for Board of Patent Appeals?

No

Date of Request:

JULY 8 - 2003

Date Needed By:

8-7-2003

(Please do not write ASAP-indicate a specific date)

PTO 2003-4367

S.T.I.C. Translations Branch

Foreign Patents

Phone:

308-0881

Fax:

308-0989

Location:

Crystal Plaza 3/4
Room 2C01

SPE Signature Required for RUSH:

Document Identification (Select One):

** (Note: Please attach a complete, legible copy of the document to be translated to this form)**

1. ☒

Patent

Document No.

11-322534

Language

Japanese

Country Code

JP

Publication Date

11-24-99

No. of Pages

8 (filled by STIC)

2. ☐

Article

Author

Language

Country

3. ☐

Other

Type of Document

Country

Language

Document Delivery (Select Preference):

☐ Delivery to nearest EIC/Office

Date: 7-15-03 (STIC Only)

☐ Call for Pick-up

Date: (STIC Only)

☒ Fax Back

Date: (STIC Only)

STIC USE ONLY

Copy/Search

Processor:

Date assigned:

Date filled:

Equivalent found:

(Yes/No)

Doc. No.:

Country:

Remarks:

Translation

Date logged in:

PTO estimated words:

Number of pages:

In-House Translation Available:

In-House:

Translator:

Assigned:

Returned:

Contractor:

Name:

Priority:

Sent:

Returned:

To assist us in providing the most cost effective service, please answer these questions:

Will you accept an English Language Equivalent?

Yes (Yes/No)

Will you accept an English abstract?

No (Yes/No)

Would you like a consultation with a translator to review the document prior to having a complete written translation?

Yes (Yes/No)

Copy of H/MAT E-mail 7-15-03

7-8-03

30

DW

5

7/19/03

7-15-03

For 10/008,663

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 許出願公開番号

特開平11-322534

(43) 公開日 平成11年(1999)11月24日

| | | | | |
|------------------------------|------------------------------|---------------------|-----------------------|-------------|
| (51) Int.Cl. A 6 1 K 7/00 | 識別記号 7/48 35/74 ADA | F I A 6 1 K 7/00 | 7/48 35/74 ADAG | K C W |
| 審査請求 未請求 請求項の数1 OL (全 8 頁) | | | | |

(21) 出願番号 特願平10-131857

(22) 出願日 平成10年(1998) 5月14日

(71) 出願人 000000952

鐘紡株式会社

東京都墨田区墨田五丁目17番4号

(72) 発明者 早瀬 基

神奈川県小田原市寿町5丁目3番28号 鐘紡株式会社化粧品研究所内

(72) 発明者 佐々木 稔

神奈川県小田原市寿町5丁目3番28号 鐘紡株式会社基礎科学研究所内

(54) 【発明の名称】 セラミド合成促進剤

(57) 【要約】

セラミド合成促進剤

【課題】皮膚表層内部で表皮細胞自身のセラミド合成を活性化させ皮膚バリアー機能を改善することによって荒れ肌の改善および各種皮膚疾患の改善が期待される、経時安定性の優れたセラミド合成促進剤を提供すること。

【解決手段】成分A)としてセラミド合成促進作用を持つ菌培養物と成分B)として1, 3-ブチレングリコールからなり、成分A)が成分B)に対し、3~6倍重量であるセラミド合成促進剤。

PTO 2003-4367

S.T.I.C. Translations Branch

【特許請求の範囲】

【請求項1】 成分A)としてセラミド合成促進作用を持つ菌培養物と成分B)として1, 3-ブチレングリコールからなり、成分A)が成分B)に対し3〜6倍重量であるセラミド合成促進剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、皮膚表層内部において表皮細胞自身のセラミド合成を活性化させ、皮膚バリア機能を改善することにより荒れ肌および各種皮膚疾患の改善又は治療効果が期待され、且つ経時安定性の優れたセラミド合成促進剤に関する。

【0002】

【従来の技術】脂質の一種であるセラミドは、生体内で大部分を占めるグリセロ脂質に比べて量的には少ないが、重要な生理的役割を持つ事が最近知られてきている。これは、ヒトを始めとする哺乳類の生理的に重要な部位に存在するが、中でも脳、肝臓、皮膚などに蓄積されている事が知られている。

【0003】皮膚では特に表皮角質層にセラミドが集積している。これは表皮細胞によって合成分泌され、細胞間に独特のラメラ構造を形成している細胞間脂質の主成分となっている(Lukas Landmann: Anat Embryol, 178巻, 1-3頁, 1988年)。角質層は、皮膚の保湿能や生体の物理的保護を始めとする一連の生理的役割、いわゆるバリアー機能を持っているが、細胞間脂質はこのバリアー機能の実体であり、生命維持において最も重要な役割の一つを担っている(芋川玄爾: 香粧会誌, 15巻, 4号, 250-253頁, 1991年)。この意味から、皮膚セラミドは生体防御の重要な物質の1つになっていると言える。

【0004】肌荒れや乾燥肌、また各種皮膚疾患では、この角質層の健全な形成が妨げられ、バリアー機能の低下が生じる事が数多く報告されている。具体的な例としては、皮膚表面の加齢に伴う表皮層のターンオーバーの低下、あるいは光や温度、気象条件などの外的要因によって生じる肌荒れや乾燥肌があげられる。これはバリアー機能の低下が生じ、本来皮膚が有している保湿能力の低下と水分蒸散量の増加が生じた結果誘発されと考えられている(赤崎秀一ほか: 日皮会誌, 98巻, 1号, 41-51頁, 1988年)。

【0005】また皮膚疾患のなかで、アトピー性皮膚炎では患者の炎症部のみならず非炎症部でもバリアー機能の低下や崩壊が見られ、患者皮膚中セラミドの全般的な、あるいは特定の種類の含量低下が報告されている(川島真: 香粧会誌, 15巻, 4号, 261-262頁, 1991年)。このほか乾癬でも患者皮膚中のセラミド量の変動が報告されており(Stefania M: Arch Dermatol, 130巻, 452-456頁, 1994年)、この場合もこの変動がバリアー崩壊と関係していると考

えられる。

【0006】このような皮膚バリアー機能の低下や崩壊からくる皮膚の疾患や不全に対しては、従来保湿剤の投与で皮膚の乾燥状態を防ぎ潤いを持たせることや、抗炎症剤による湿疹の抑制が試みられてきた。しかし、これらの方法は、角質表面の水分あるいは保湿成分の一部を補給する為にその効果が一時的なものに留まり、皮膚内部に十分な潤いを持続的に与える事ができなかったり(武村俊之: ファルマシア, 28巻, 1頁, 1992年)、一時的な炎症を抑えても効果の持続性や副作用に問題のあることが多かった。

【0007】これに対し、最近バリアー構成主要成分であるセラミドの外部補給で皮膚の改善治療が試みられ、肌荒れ状態やアトピー性皮膚炎への有効性が報告された(檜垣祐子ほか: アレルギーの臨床, 13巻, 12号, 26-28頁, 1993年)。しかしながら、この方法は効果の出現が早いと思われる半面、従来から用いられていた保湿剤などと同様、効果の持続性の点で不十分であり、また、皮膚の状態による経皮吸収の違いなどで効果が充分発揮されないという欠点がある。

【0008】一方、外部から補給するのではなく、組織内部でのセラミド合成能を高めることによる皮膚の改善治療が試みられ、これまでに酵母菌等の菌培養物が表皮細胞のセラミド合成を促進することが見出された(特開平8-217658号公報、特開平9-194383号公報、特願平9-115236号)。しかしながらこれら菌培養物は澱が出るなど不安定であると共に微生物による汚染を受け易く、経時的に安定なセラミド合成促進物質を得ることは困難であった。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】かかる事情に鑑み、本発明者等は、皮膚表層内部で表皮細胞自身のセラミド合成を活性化させ皮膚バリアー機能を改善させる効果を損なわずに経時的に安定であるセラミド合成促進物質を得る事を意図し、物質の溶解性が高く、防腐効果があり、且つ細胞や皮膚への作用が緩和である物質を種々検討した結果、セラミド合成促進作用を持つ菌培養物と1, 3-ブチレングリコールからなる特定比率の組成物が有効なセラミド合成促進作用を有すると共に経時安定性に優れていることを見出し、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明の目的は、皮膚表層内部で表皮細胞自身のセラミド合成を活性化させ皮膚バリアー機能を改善することにより荒れ肌の改善および各種皮膚疾患の改善が期待され、且つ経時安定性の優れたセラミド合成促進剤を提供するにある。

【0010】

【課題を解決するための手段】上述の目的は、成分A)としてセラミド合成促進作用を持つ菌培養物と成分B)として1, 3-ブチレングリコールからなり、成分A)が成分B)に対し3〜6倍重量であるセラミド合成促進

剤によって達成される。

【0011】

【発明の実施の形態】以下、本発明の構成について詳説する。本発明に用いられる菌培養物は、表皮細胞自身のセラミド合成を活性化するので、乳酸菌培養物、ビフィズス菌培養物、きのこ菌体培養物、酵母菌培養物等が挙げられる。

【0012】乳酸菌としては、例えば *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactococcus lactis*等、ビフィズス菌としては、例えば *Bifidobacterium bifidum* 等、きのこ菌体としては、例えば *Lentinus edodes* (しいたけ), *Pleurotus ostreatus* (ひらたけ), *Flammulina velutipes* (えのきたけ) 等、酵母菌としては、例えば *Saccharomyces cerevisiae*, *Endomyces magnusii*等が挙げられる。

【0013】本発明に用いられる1, 3-ブチレングリコールに対し、菌培養物は3~6倍重量である。3倍より菌培養物が少ない場合は澱を生じ、また、6倍より多い場合は微生物による汚染を生じることがある。

【0014】本発明のセラミド合成促進剤の使用形態としては、培養細胞への添加剤の他、皮膚外用剤があり、例えば軟膏、クリーム、ローション、乳液、パックなどが挙げられる。

【0015】皮膚外用剤の基剤としては、公知のものでよく、例えば、メチルフェニルポリシロキサン、ジメチルポリシロキサン、シクロメチコン等のシリコン油、パラフィン、ワセリン等の炭化水素類、オリーブスクワラン、米スクワラン、米胚芽油、ホホバ油、ヒマシ油、紅花油、ヒマワリ油、オリーブ油、マカデミアナッツ油などの植物油、ミツロウ、モクロウ、カルナバロウ等のロウ類、ミリスチン酸オクチルドデシル、パルミチン酸セチル等のエステル油、セタノール、ベヘニルアルコール、ステアリルアルコール等の高級アルコール類、コレステロール、フィトステロール、分岐脂肪酸コレステロールエステル等のステロール類、硬化油等の加工油類、ステアリン酸、ミリスチン酸、イソステアリン酸、オレイン酸、イソ型長鎖脂肪酸、アンテイソ型長鎖脂肪酸などの高級脂肪酸、トリイソステアリン酸グリセリド、カプリル・カプリン酸グリセリド、2-エチルヘキサン酸グリセリドなどのトリグリセリド、タール系色素、酸化鉄などの着色顔料、パラベン、フェノキシエタノールなどの防腐剤、セチル硫酸ナトリウム、N-ステアロイル-L-グルタミン酸塩、グリチルリチン酸塩などの陰イオン界面活性剤、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン多価アルコール脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、多価アルコール脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、変性シリコン、蔗糖エステルなどの非イオン界面活性剤、テトラアルキルアンモニウム塩などの陽イオン界面活性剤、ベタイン型、スル

ホベタイン型、スルホアミノ酸型などの両性界面活性剤、レシチン、リゾフォスファチジルコリン、セラミド、セレブロシドなどの天然系界面活性剤、酸化チタン、酸化亜鉛などの顔料、ジブチルヒドロキシトルエンなどの抗酸化剤、エタノール等の一級アルコール、ジプロピレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、ソルビトール、マルビトール、ジグリセリン、塩化ナトリウム、塩化マグネシウム、硫酸ナトリウム、硝酸カリウム等の無機塩類、琥珀酸ナトリウム、アスパラギン酸ナトリウム等の有機酸塩類、塩酸エタノールアミン、硝酸アンモニウム、塩酸アルギニン、燐酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、炭酸塩、トリスヒドロキシメチルアミノメタン塩酸塩、ジイソプロピルアミンジクロロ酢酸塩等の塩類、キサンタンガム、カルボキシビニルポリマー、カラギーナンアルキル変性カルボキシビニルポリマー等の増粘剤、エデト酸等のキレート剤、水酸化カリウム、ジイソプロパノールアミン、トリエタノールアミン等の中和剤、ヒアルロン酸、コラーゲン等の生体高分子、カミツレ、センブリ、アロエ、モモ、カロット、スギナ、クワ、桃の葉、セージ、ビワ葉、キュウカンバー、セイヨウキズタ、ハイビスカス、ウコン、ローズマリー、甘草等の植物エキス、セリン、スレオニン、N-メチル-L-セリン、アミノ酪酸、ヒドロキシアミノ酪酸等のアミノ酸、ヒドロキシメトキシベンゾフェノンスルホン酸塩等の紫外線吸収剤、ビタミンA類、B類、C類、E類などのビタミン類等を用いることが出来るがこれに限定されるものではない。

【0016】本発明のセラミド合成促進剤を、培養表皮細胞系に添加してセラミド合成を促進する場合の添加量は、0.001~10重量%が好ましい。

【0017】また、本発明のセラミド合成促進剤の皮膚外用剤への配合量は、セラミド合成を十分に促進し、しかも培養物の色や臭いが出にくい配合量を考慮し、組成物総量を基準として、0.01~20重量%とするのが好ましく、特に好ましくは0.1~10重量%である。

【0018】

【実施例】以下、実施例、比較例により詳細に説明する。

実施例1~5、比較例1~5 (乳酸菌培養物)

スキムミルク10g、グルコース1g、ニコチン酸0.01g、酵母エキス0.5gに精製水を加えて100mlとし、121℃、20分間高圧滅菌して培地を調製した (スキムミルクはDifco社製、グルコース、ニコチン酸は関東化学社製、酵母エキスはアサヒビール社製を用いた)。これに同培地で37℃、24時間前培養した *Lactococcus lactis* (IFO 12007)、*Streptococcus thermophilus* (ATCC 19254) および *Lactobacillus bulgaricus* (ATCC 11842) を1%接種した。37℃、24時間静置培養後、遠心分離で菌体を除き、培養上清を80℃、30分間処理した乳酸菌培養物を得た。この乳

酸菌培養物と1, 3-ブチレングリコールをそれぞれ一定量混合し、実施例1〜5のセラミド合成促進剤をそれぞれ得た。また、上記乳酸菌培養物と1, 3-ブチレングリコール、エタノール、ジプロピレングリコールを混*

* 合し、比較例1〜5の組成物を得た。混合割合は重量%である。

【0019】

【表1】

| | 実施例 | | | | | 比較例 | | | | |
|--|-----|----|----|----|----|-----|----|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 培養物 | | | | | | | | | | |
| <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (ATCC 11842) | 80 | 75 | 85 | — | — | 100 | 70 | 90 | 80 | 80 |
| 培養物 | | | | | | | | | | |
| <i>Streptococcus thermophilus</i> (ATCC 19254) | — | — | — | 80 | — | — | — | — | — | — |
| 培養物 | | | | | | | | | | |
| <i>Lactococcus lactis</i> (IFO12007) | — | — | — | — | 80 | — | — | — | — | — |
| 1, 3-ブチレングリコール | 20 | 25 | 15 | 20 | 20 | — | 30 | 10 | — | — |
| エタノール | — | — | — | — | — | — | — | — | 20 | — |
| ジプロピレングリコール | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 20 |
| 安定性試験 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | × | × | ○ | × | × |
| 防腐力試験 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | × | ○ | × | ○ | × |

【0020】以下、実施例1〜5のセラミド合成促進剤、および比較例1〜5の組成物を用いた、経時安定性試験、セラミド合成促進試験及び皮膚バリアー回復試験を行った。

【0021】試験例1 経時安定性試験（製剤安定性）

（1）方法

サンプル管に実施例1〜5のセラミド合成促進剤、および比較例1〜5によって得られた菌培養物を入れ、30℃、室温、0℃にて3ヶ月間放置し、凝の無い物を○とし、凝があるものを×とした。

（2）結果

結果を表1に示す。表1より明らかなように本発明のセラミド合成促進剤（実施例1〜5）に経時安定性効果が認められた。

【0022】試験例2 経時安定性試験（余剰防腐性）

（1）方法

未殺菌のガラス管に実施例1〜5のセラミド合成促進剤、および比較例1〜5によって得られた菌培養物20mlを入れ、*Staphylococcus aureus* (ATCC6538)、*Escherichia coli* (ATCC8739)、*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027)を105個/mlとなるように植菌し、25℃にて28日間放置し、それぞれ菌数が0.1%以下となったものを○、菌数が0.1%以下とならなかったものを×とした。

（2）結果

結果を表1に示す。表1より明らかなように本発明のセラミド合成促進剤（実施例1〜5）に余剰防腐力が認められ、経時安定性効果が認められた。

【0023】試験例3 セラミド合成促進試験

※（1）方法

（a）培養表皮細胞

ヒト正常表皮細胞は市販されているもの（Cascade Biologic社製）を用いた。

（b）細胞培養用培地

培地としては増殖因子としてBPE（牛脳下垂体）を添加したMCDB153培地を用いた。

（c）Hepes緩衝液の調製

Hepes 7.15g、グルコース1.8g、塩化カリウム0.22g、塩化ナトリウム7.7g、リン酸水素二ナトリウム・12水和物0.27gを精製水に溶解し、1N水酸化ナトリウム水溶液にてpH7.4に調整後、1lにメスアップした。

【0024】（d）細胞培養

正常ヒト表皮細胞の細胞数をMCDB153培地にて1×10⁴個/mlに調製し、60mmコラーゲンコートプレート（ファルコン社製）に4mlずつ播種し、95%空気（V/V）-5%（V/V）炭酸ガスの雰囲気下、37℃で5日間静置培養した。培養上清を吸引除去し、実施例1、4および5のセラミド合成促進剤を1重量%添加したMCDB153培地を4mlずつ各ディッシュに加えた。尚、コントロールとしてHepes緩衝液を添加した。このディッシュを95%空気（V/V）-5%（V/V）炭酸ガスの雰囲気下、37℃で6日間静置培養した。6日目に0.5μCiの[14C]-セリン（American Radiolabeled Chemicals社製）を培地に添加して、培養を2日間更に行った。培養後、以下のごとく細胞を処理した。

※50 【0025】（e）脂質の抽出

培地上澄を吸引除去し、5mlのHepes緩衝液で2回洗浄した後、細胞をセルスクレーパー（住友ベークライト社製）でディッシュからかきとった。これを1.6mlのHepes緩衝液に、懸濁し、4mlのメタノールと2mlのクロロホルムを加え混合する。20分間室温で静置した後、それぞれ1.6mlのクロロホルム層をとり、脂質画分を得た。クロロホルムを遠心分離により除き1mlのベンゼンに再溶解した。

【0026】(f) イアトロビーズカラムを用いたセラミド画分の単離

ベンゼンに溶解した脂質試料を、イアトロビーズ100 β *

*1 を充填したカラムに供し、ベンゼン-酢酸エチル（4:1）溶液で洗浄した後、酢酸エチル1mlにて溶出させることにより、セラミド画分を得た。

【0027】(g) [14C] ラベルされたセラミドの放射活性測定

上記セラミド画分に取り込まれた放射活性を、液体シンチレーションカウンターにて測定した。

(2) 結果

結果を表2に示す。

10 【0028】

【表2】

| | 実施例1 | 実施例4 | 実施例5 | コントロール |
|------------------------------------|------|------|------|--------|
| セリド産生試験(dpm/plate/2days) | 5041 | 5211 | 4960 | 2854 |
| 皮膚バリア回復試験(mg/cm ² /min) | 0.21 | 0.22 | 0.20 | 0.31 |

【0029】表2より明らかなように本発明のセラミド合成促進剤（実施例1、4および5）にセラミドの合成促進効果が認められた。

【0030】試験例4 皮膚バリアー回復試験

(1) 方法

供試動物としてはSkh:hr系ヘアレスマウス雄性（日本SLC）6週齢を購入、2週間予備飼育した後、1群5匹で実験を開始した。荒れ肌はレチノイン酸（ビタミンA酸: all-transretinoic acid, SIGMA）20 μ gをエタノールに溶解、マウスの臀部に均一になるように1日1回（午前）、3日間塗布して作製した。

【0031】実施例1、4および5のセラミド合成促進剤2mlを凍結乾燥後、同量の50%（V/V）エタノールに溶解し、レチノイン酸を塗布し始めた日の午後から、同様に100 μ lを1日1回（午後）、3日間塗布した。尚、コントロールは、50%（V/V）エタノールのみを塗布したものである。

【0032】レチノイン酸塗布3日後に経表皮水分喪失量（TEWL）を測定し、水分蒸散量(mg/cm²/min)で示した。尚、TEWLは皮膚バリアー機能を測る指標で、※

※バリアー機能が破壊すると上昇し、それが回復すると低下するものである。TEWLの測定はフォーション製のAUM-3を用いて行なった。

20

【0033】(2) 結果

結果を表2に示す。表2より明らかなように、レチノイン酸塗布3日後の実施例1、4および5のセラミド合成促進剤塗布群のTEWLはコントロールよりも低く、実施例1のセラミド合成促進剤の塗布によりレチノイン酸による皮膚バリアー機能のダメージを回復することがわかった。

【0034】以下、本発明のセラミド合成促進剤の応用例を示す。

30 応用例1～3（スキนครリーム）

実施例1のセラミド合成促進剤を表3の組成（重量%、以下同様である）でそれぞれを配合し、スキนครリームを調製した（応用例1～3）。

(1) 組成

【0035】

【表3】

| | | 処方例1 | 処方例2 | 処方例3 |
|---|-----------------------|------|------|------|
| A | 流動パラフィン | 10 | 10 | - |
| | 植物スチレン | - | - | 10 |
| | セチルアルコール | 5 | 5 | - |
| | 2-エチルヘキサン酸セチル | 5 | 5 | - |
| | ミリスチン酸セチル | - | - | 5 |
| | オリーブ油 | - | - | 5 |
| | ステアリン酸セチル | 2 | 2 | 2 |
| | ステアリン酸 | 2 | 2 | 2 |
| | コレステロール | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| | ペニシリン | 2 | 2 | 2 |
| | イソステアリン酸硬化大豆油 | 1 | 1 | 1 |
| | ジステアリン酸 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| | オキシベン | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| B | 実施例1のセラミド合成促進剤 | 0.1 | 2 | 0.5 |
| | グリセロール | 5 | 5 | 5 |
| | オキシベン | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| | N-ステアロイル-L-グルタミン酸トリウム | 1 | 1 | 1 |
| | コリン酸アミド | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| | 甘草抽出物 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| | レシチン | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| | グリシン | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| | グリセリン | 0.02 | 0.02 | 0.02 |
| | 水酸化カリウム | 0.4 | 0.4 | 0.4 |
| | 純水 | 残量 | 残量 | 残量 |

【0036】(2)調製法

(A)成分および(B)成分を各々80℃に加熱溶解し
た後、混合して攪拌しつつ冷却し、30℃まで冷却し
て、スキนครリームを調製した。

【0037】応用例4～6(ローション)

*実施例1のセラミド合成促進剤を表4の組成で配合し、
ローションを調製した(処方例4～6)。

(1)組成

【0038】

【表4】

| | 処方例4 | 処方例5 | 処方例6 |
|--------------------|------|------|------|
| 実施例1のセラミド合成促進剤 | 0.1 | 1 | 0.5 |
| エタノール | 15 | 15 | - |
| ジカリンガコール | - | - | 10 |
| PCE 硬化マシ 油(60E.Q.) | 1 | 1 | 1 |
| エチルアルコール | 1 | 1 | 1 |
| マシ油 | 5 | 5 | 5 |
| シリカポリシロキサン | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| カゼイン | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| N-ステアレート | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| ヒトヒアルロン酸 | 0.02 | 0.02 | 0.02 |
| カルボキシステアレート | 0.07 | 0.07 | 0.07 |
| カルボキシステアレート | 0.03 | 0.03 | 0.03 |
| 松の葉エキス | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| ミツバネ | 1.5 | 1.5 | 1.5 |
| パルミチン酸 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| フェニチン | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| 純水 | 残量 | 残量 | 残量 |

【0039】(2)調製法

成分をそれぞれ混合溶解し、ローションを調製した。

【0040】応用例7~9(親油性クリーム)

実施例1のセラミド合成促進剤を表5の組成でそれぞれ*

20*を配合し、クリームを調製した(処方例7~9)。

(1)組成

【0041】

【表5】

| | 処方例7 | 処方例8 | 処方例9 |
|-----------------------|------|------|------|
| A | | | |
| PCE 変成ジカリンガコール *1 | 1 | 1 | - |
| PCE 変成 共変成ジカリンガコール *2 | - | - | 2 |
| ジカリンガコール | 5 | 5 | 5 |
| ジカリンガコール | 22 | 22 | 10 |
| シロキサン *3 | 2 | 2 | - |
| ポリシロキサン-エチルアルコール | 1 | 1 | 3 |
| B | | | |
| 実施例1のセラミド合成促進剤 | 0.1 | 5 | 1 |
| カゼイン | 5 | 5 | 5 |
| ジカリンガコール | 10 | 10 | 10 |
| ジカリンガコール | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| アスコルビン酸 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| アスコルビン酸 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| ゴボウ抽出物 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| 塩化ナトリウム | 0.9 | 0.9 | 0.9 |
| 香料 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| 純水 | 残量 | 残量 | 残量 |

*1: 東レ・ダウコーニング社製 BY22-008

*2: ゴールドシュミット・デー・ハー社製 ABIL EM90

*3: 東レ・ダウコーニング社製 トレフィル

【0042】(2)調製法

(A)成分および(B)成分を各々60℃に加熱溶解した後、混合して攪拌しつつ冷却し、30℃まで冷却して、クリームを調製した。

【0043】応用例10~11(美容液)

※実施例1のセラミド合成促進剤を表6の組成でそれぞれを配合し、美容液を調製した(処方例10~11)。

(1)組成

【0044】

※50 【表6】

13

14

| | | 処方例10 | 処方例11 |
|---|-------------------|-------|-------|
| A | 水素添加リン | 2 | 2 |
| | 長鎖分岐脂肪酸コレステリル *4 | 1 | 1 |
| | ニコチン酸-dl-α-トコフェール | 0.1 | 0.1 |
| | イソアリン酸 | 1 | 1 |
| | イソノール | 10 | 10 |
| | シカリンアルコール | 5 | 5 |
| B | 実施例1のセラミド合成促進剤 | 0.05 | 2 |
| | 加糖化ニベール | 0.2 | 0.2 |
| | 好酸行心 | 0.1 | 0.1 |
| | グリセリン脂肪酸カラム | 0.2 | 0.2 |
| | シツカウリ-アミン | 0.2 | 0.2 |
| | アロ抽出物 | 0.1 | 0.1 |
| | メチルシステイン | 0.1 | 0.1 |
| | 乳酸 | 0.05 | 0.05 |
| | サリチル酸 | 0.02 | 0.02 |
| | アロ抽出物 | 0.4 | 0.4 |
| | 純水 | 残量 | 残量 |

*4: 日本精化社製 YOFCO CLE-NH

20

【0045】(2)調製法

(A)成分および(B)成分を各々60℃に加熱溶解した後、混合して攪拌しつつ冷却し、30℃まで冷却して、美容液を調製した。

【0046】

【発明の効果】以上の如く、本発明により、皮膚表層内部で表皮細胞自身のセラミド合成を活性化させ皮膚バリア機能を改善することによって荒れ肌の改善および各種皮膚疾患の改善が期待される、経時安定性の優れたセラミド合成促進剤を提供できることは明らかである。